

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 18, 1980, pp. 885–891

Glucosebestimmung in hämolysierten Blutproben

Von H. Schlebusch

Universitäts-Frauenklinik (Direktor: Prof. Dr. E. J. Plotz), Bonn,

M. Sorger

Medizinische Universitäts-Poliklinik (Direktor: Prof. Dr. F. Krück), Bonn,

E. Munz, A.-Ch. Kessler und W. Zwez

Boehringer Mannheim GmbH, Diagnostica-Forschung Tutzing

(Eingegangen am 17. September 1979/11. Februar 1980)

Zusammenfassung: Es wird über die Bestimmung von Glucose in hämolysierten und stabilisierten Blutproben mit der Hexokinase-Glucose-6-phosphatdehydrogenase-Methode berichtet.

Die Glucosekonzentration in den hämolysierten Proben ändert sich innerhalb von 7 Tagen nicht.

Die Meßreaktion ist auch bei hohen Glucosekonzentrationen (Verdünnungsgrenze: 60 mmol/l) nach 5 Minuten abgelaufen. Eine Störung durch Lipämie, Bilirubin und Pharmaka wurde nicht beobachtet; die Störung durch Fructose ist gering.

Ein Vergleich mit enteiweißten Proben zeigt eine sehr gute Übereinstimmung der Hämolysatmethode mit der Referenzmethode. Präzision und Wiederfindung waren gut.

Die Methode ermöglicht ein rationelles Arbeiten auch bei kleinem Probenanfall und erschließt die Möglichkeit der individuellen Blutentnahme auch außerhalb der ärztlichen Praxis oder des Krankenhauses, welches zu einer verbesserten Überwachung insulinpflichtiger Diabetiker führt.

Determination of glucose in hemolysed blood samples

Summary: The determination of glucose in hemolysed and stabilized blood samples by the hexokinase/glucose-6-phosphate-dehydrogenase-method is described.

The glucose concentration in hemolysed blood samples was stable for 7 days. Even at high glucose concentrations (linear range up to 60 mmol/l), the reaction came to completion within 5 minutes. No interference by lipemia, bilirubin and drugs was observed; the interference of fructose was slight.

Compared with deproteinized samples there was a very good correlation between this method and the reference method. Precision and recovery were good. This method is also suited for the analysis of few samples and offers the possibility of blood sugar self-profiles in diabetic out-patients and gives an increasing improvement of diabetic control.

Einleitung

Zur Bestimmung der Glucose-Konzentration in Körperflüssigkeiten wird die Hexokinase-Glucose-6-phosphatdehydrogenase-Methode international als Referenzmethode angesehen. Durch eine Reihe von Modifikationen hat sie sich in verschiedenen Anwendungsfor-

men (1) im klinischen-chemischen Routinelaboratorium bewährt.

In der Praxis stehen vielfach Forderungen wie kleine Probevolumina, Stabilität der Probe über einen längeren Zeitraum und einfache Durchführbarkeit der Bestimmung bei hoher Präzision und Richtigkeit im Vorder-

grund. Diese Ansprüche werden von der im folgenden beschriebenen Modifikation der Hexokinase-Methode weitgehend erfüllt (2, 3).

Durch dieses Verfahren ist die Möglichkeit der individuellen Blutabnahme gegeben. Damit wird eine Verbesserung der Blutglucosekontrolle speziell bei ambulanten insulinpflichtigen Diabetikern erreicht. So kann der Insulinbedarf oder die Insulinart unter den Bedingungen des Alltags in regelmäßigen Abständen überprüft und korrigiert werden (4, 5, 6).

Material und Methoden

Prinzip der Methode

Die Bestimmung der Glucose in der hämolysierten Blutprobe erfolgt mit der Hexokinase-Glucose-6-phosphat-dehydrogenase-Methode.

Die Erythrocyten der Vollblutprobe werden durch Digitonin hämolysiert. Eine Reaktion mit Cholesterin der Erythrocytenmembran ist wahrscheinlich der Grund für die hämolysierende Wirkung (7).

Im menschlichen Erythrocyten finden sich sowohl die Enzyme der Glykolyse wie die des Pentosephosphatzyklus (8, 9). Durch die Hämolysen werden daher Enzyme in den Testansatz gebracht, die normalerweise im Serum nicht oder nur in sehr geringer Menge vorkommen. Maleinimid bewirkt bereits in geringen Konzentrationen eine vollständige Hemmung der am Anfang der Glykolysekette bzw. des Pentosephosphatzyklus stehenden Enzyme Hexokinase, Gluconat-6-phosphat-dehydrogenase und Glucose-6-phosphat-dehydrogenase, ohne daß die für den Test benötigten Hilfsenzyme Hexokinase und Glucose-6-phosphat-dehydrogenase aus Hefe inhibiert werden (10).

Reagenzien

Hämolysereagenz aus eingewogenen Substanzen

10 mg Digitonin (Nr. 3043, E. Merck, D-6100 Darmstadt) und 10 mg Maleinimid (Nr. 04332, EGA-Chemie, D-7924 Steinheim) werden in 10 ml destilliertem Wasser unter 2stündigem Rühren auf dem Magnetrührer gelöst. Die Lösung ist nach Filtrieren gebrauchsfertig.

Hämolysereagenz in Tablettenform¹⁾

1 Tablette (2,5 mg Digitonin, 5 mg Maleinimid) wird in 50 ml destilliertem Wasser unter Umrühren aufgelöst; die Lösung ist nach 5 Minuten gebrauchsfertig.

Die Reagenzien zur Glucosebestimmung (Gluco-quant[®]) sowie die Kontrollseren Precipath, Precilip und Precinorm U stammen aus dem Lieferprogramm der Firma Boehringer Mannheim GmbH, D-6800 Mannheim 31. Das Kontrollserum Validate A ist über die Firma Goedecke, D-7800 Freiburg, das Kontrollserum Normosic über die Firma Asid Bonz und Sohn, D-8044 Unterschleißheim, die Kontrollseren Monitrol I und Monitrol II sind über die Firma American Hospital Supply (AHS), D-8000 München 50 und das Kontrollserum Seronorm ist über die Firma E. Merck, D-6100 Darmstadt zu beziehen.

Geräte

Photometer Eppendorf Modell 6115 bzw. 1101 M mit Registrierung (Drucker bzw. Schreiber) Messung bei Hg 365 nm.

Eppendorf-Zentrifuge Modell 3200.

Halbmikro-Einmalküvetten Nr. 67.742 (Firma Sarstedt, D-5223 Nümbrecht).

Kolbenhubpipetten, Oxford-Laboratories
10 µl-Glaskapillaren nach Delbrück (End-to-End-Kapillaren)
10 µl-Glaskapillaren mit Ringmarke.

Probengewinnung

Die überwiegende Anzahl der Untersuchungen wurde mit Kapillarblut durchgeführt; bei einem kleineren Teil wurde venöses Blut verwendet.

Zur Gewinnung von Kapillarblut erwiesen sich End-to-End-Kapillaren²⁾ und ringmarkierte Kapillaren mit einem Volumen von 10 µl verschiedener Hersteller als geeignet.

Methoden

Glucosebestimmung im Vollblut mit Enteiweißung („Hexokinase-Methode mit Enteiweißung“)

100 µl Blut werden mit 1 ml Perchlorsäure (0,33 mol/l) enteiweißt. Nach Zentrifugation werden 50 µl Überstand mit 1 ml des Puffer-Coenzymgemisches versetzt. Nach Messung der Anfangsabsorption A₁ gegen Wasser wird die Reaktion mit 10 µl Enzymgemisch gestartet. Nach 10 Minuten wird A₂ abgelesen.

Berechnung: $\Delta A = A_2 - A_1$.

Konzentration (mmol/l) = $65,1 \times \Delta A$

Glucosebestimmung in hämolysierten Blutproben, Messung gegen Wasser („Hämolysat-Methode, A₁/A₂-Technik“)

10 µl Blut werden mit 1 ml Hämolysierlösung vermischt und ggf. zentrifugiert.

500 µl Überstand werden mit 1 ml des Puffer-Coenzymgemisches versetzt, intensiv gemischt und in eine Halbmikroküvette umgossen. Nach Messung der Anfangsabsorption A₁ gegen Wasser wird die Reaktion mit 10 µl Enzymgemisch gestartet; nach 5–10 Minuten wird A₂ abgelesen.

Berechnung: $\Delta A = A_{\text{Probe}} - A_{\text{Probenleerwert}}$

Konzentration (mmol/l) = $86,6 \times \Delta A$

Glucosebestimmung in hämolysierten Blutproben, Messung gegen Probenleerwert („Hämolysat-Methode, P/PL-Technik“)

10 µl Blut werden mit 1 ml Hämolysierlösung vermischt und ggf. zentrifugiert.

In 2 Röhrchen werden jeweils 250 µl Überstand und 500 µl des Puffer-Coenzymgemisches pipettiert; in ein Röhrchen wird zusätzlich 10 µl Enzymgemisch gegeben. Nach intensivem Mischen werden die Ansätze in Halbmikroküvetten überführt; nach 5–10 Minuten wird die Absorption der Probe gegen die des Probenleerwertes gemessen.

Berechnung: $\Delta A_2 = A_{\text{Probe}} - A_{\text{PL}}$

Konzentration (mmol/l) = $86,6 \times \Delta A$

Ergebnisse und Diskussion

Hämolys-Reagenz

Zur Überprüfung der Richtigkeit unter Verwendung der konfektionierten Hämolys-Reagenz-Tablette wurde eine Vergleichsuntersuchung mit eingewogenem Hämolys-Reagenz an 40 Kapillarblutproben mit einer Glucosekonzentration zwischen 3,88 und 21,09 mmol/l durchgeführt.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 1 dargestellt.

Die statistische Auswertung über den Wilcoxon-Test bestätigt die Übereinstimmung beider Verfahren. Die zur Herstellung von Hämolysereagenz in Tablettenform notwendigen Hilfsstoffe stören demnach die Reaktion nicht.

¹⁾ Hämolysereagenz Boehringer Mannheim GmbH.
Best.-Nr. 209210 Tabletten für 10 × 50 ml Reagenz
Best.-Nr. 262838 Tabletten für 10 × 500 ml Reagenz

²⁾ z. B. end to end capillette[®], Clinicon Mannheim GmbH
Best.-Nr. 38065.

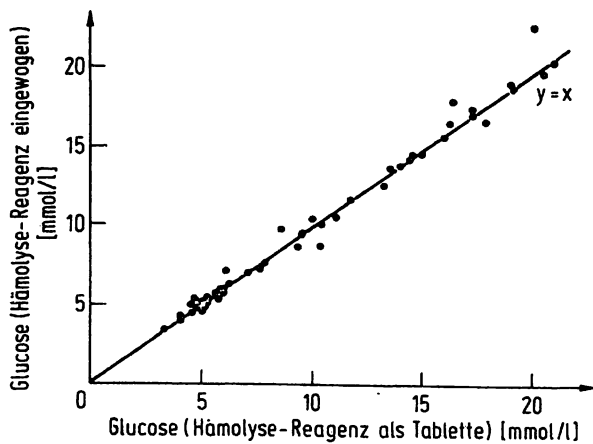


Abb. 1. Vergleich der Glucosebestimmung bei Hämolysen mit Hämolysen-Reagenz-Tablette bzw. eingewogenen Substanzen.

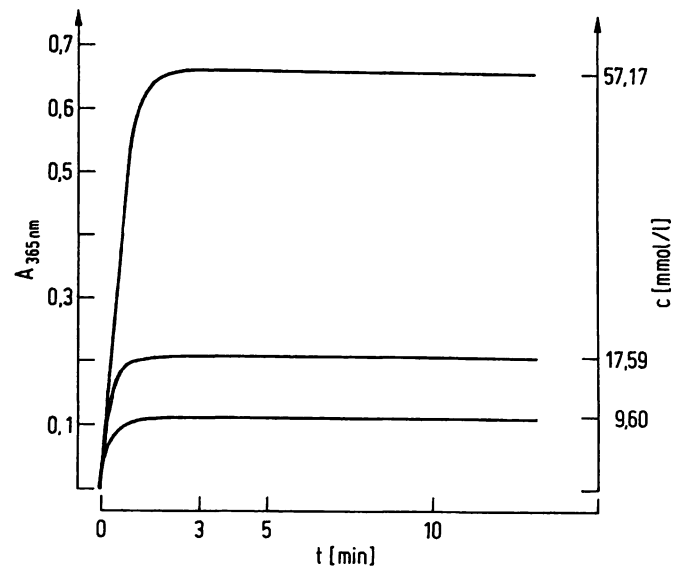


Abb. 2. Reaktionsverlauf in verschiedenen Konzentrationsbereichen.

Stabilität des Hämolysen-Reagenz

Die Haltbarkeit des Hämolysen-Reagenz überprüfen wir durch einen Funktionstest mit Lösungen aus vorschriftsmäßig gelagerten Tabletten sowie mit Tabletten, die 3 Wochen bei +35 °C gelagert worden waren.

Während dieser Zeit zeigten sich keine sichtbaren Veränderungen und die Lösung war voll funktionsfähig. Die aus Tabletten bereiteten Lösungen sind bei Raumtemperatur sowie bei +4 °C-Lagerung mindestens 40 Tage stabil. Der Hersteller gibt eine Haltbarkeit bei +4 °C von 4 Wochen an.

Meßbedingungen

Die Anfangsabsorption des Testansatzes bei 365 nm ist wesentlich vom Hämoglobingehalt der Blutprobe abhängig, wie Tabelle 1 zeigt. Außerdem haben hohe Lipidkonzentrationen einen Einfluß auf die Höhe der Anfangsabsorption.

Bei einzelnen Proben war die Anfangsabsorption nicht konstant; es wurde sowohl eine Zunahme als auch eine Abnahme beobachtet. Eine Ursache für dieses Verhalten konnte bisher nicht gefunden werden.

Die Absorptionsänderungen betrugen maximal 0,014 pro 45 Minuten. Bei kurzen Meßzeiten (5–10 Minuten) kann der Einfluß auf das Ergebnis vernachlässigt werden.

Nach Start der Reaktion mit dem Enzymgemisch wurde der Endpunkt auch bei Glucose-Konzentrationen von 57 mmol/l nach 5 Minuten erreicht.

Das Meßsignal blieb für 45 Minuten stabil (Abb. 2).

Tab. 1. Absorptionen hämolysierter Blutproben mit verschiedenen Hämoglobingehalten.

Hämoglobingehalt (g/l) der Probe	Absorption gegen Wasser bei 365 nm
178	0,935
138	0,667
103	0,538

Präzision

Präzision in der Serie

Die Präzision in der Serie wurde in Kapillarblut bei 3 verschiedenen Glucosekonzentrationen bestimmt (Tab. 2).

Von einem Probanden wurden jeweils 20 Proben einzeln abgenommen. Die Messungen erfolgten nach der „A₁/A₂-Technik“.

Bei der „P/PL-Technik“ werden geringfügig schlechtere Präzisionen beobachtet.

Präzision von Tag zu Tag

Die Präzision von Tag zu Tag wurde mit 2 Kontrollseren (Normosic, Monitrol II) überprüft, da keine geeigneten nativen Blutproben über einen längeren Zeitraum stabil gehalten werden können (Tab. 3).

Die besseren Resultate für die Präzision von Tag zu Tag im Vergleich zur Präzision in der Serie sind zum Teil auf die unterschiedlichen Probenmaterialien zurückzuführen.

Tab. 2. Präzision in der Serie (N = 20) bei Kapillarblutproben.

Mittelwert	Standardabweichung	Variationskoeffizient
\bar{x} (mmol/l)	s (mmol/l)	(%)
4,10	0,18	4,5
19,59	0,34	1,8
39,73	0,86	2,2

Tab. 3. Präzision von Tag zu Tag (N = 18) bei Kontrollseren.

Kontrollserum	Mittelwert	Standardabweichung	Variationskoeffizient
	\bar{x} (mmol/l)	s (mmol/l)	(%)
Nr. 1	5,22	0,13	2,5
Nr. 2	11,62	0,24	2,1

Die Präzision einer photometrischen Messung ist nicht nur von der gemessenen Absorptionsdifferenz ΔA , sondern auch vom Verhältnis $\Delta A/A$ abhängig (11).

Bei der Verwendung von Seren als Probenmaterial betragen die Anfangsabsorptionen nur etwa 0,050, während sie bei Blutproben um das 10- bis 20fache höher liegen.

Meßbereichsgrenzen

Zur Ermittlung des Meßbereichs wurde Kapillarblut eines Probanden mit Glucose versetzt und stufenweise mit Natriumchloridlösung (154 mmol/l) versetzt. Es ergab sich eine lineare Beziehung bis zu einer Glucosekonzentration < 60 mmol/l (Abb. 3).

Wiederfindung in Kontrollseren

Eine Qualitätskontrolle der Methode ist mit handelsüblichen Kontrollseren durchführbar. Es wird dabei jedoch nur die Meßreaktion selbst geprüft (Hexokinase/Glucose-6-phosphat-dehydrogenase-Reaktion) (Tab. 4).

Störungen

Bilirubin

Bilirubinkonzentrationen bis 393 $\mu\text{mol/l}$ Serum zeigten keinen Einfluß auf die Bestimmung.

Lipämie

Triglyceridkonzentrationen von 8 mmol/l waren ohne Einfluß auf das Ergebnis.

Fructose

Im Normalblut finden sich nur sehr geringe Fructosekonzentrationen, bei Fructoseinfusionen kann jedoch Fructose kurzfristig bis auf Werte von etwa 1,2 mmol/l ansteigen (12); 1 Stunde nach Beendigung der Infusion sind die Werte wieder auf etwa 20% der Ausgangskonzentration abgefallen (13).

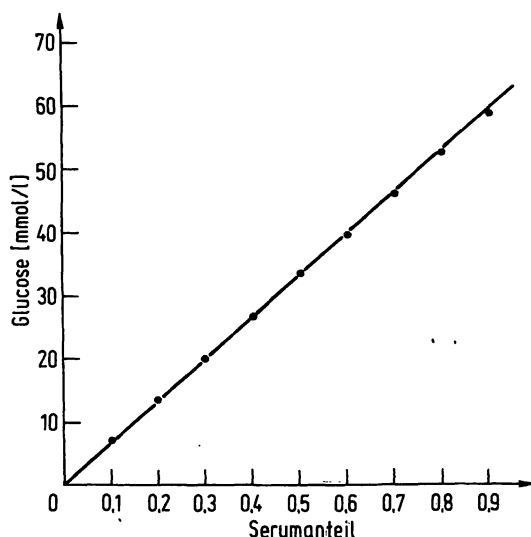


Abb. 3. Meßbereich für Glucosebestimmung im Hämolysat.

Tab. 4. Wiederfindung in Kontrollseren.

Kontrollserum	Angegebener Sollwert	Gefundener Wert	Abweichung vom Sollwert (%)
Nr.	(mmol/l)	(mmol/l)	(%)
3	4,82 (4,32–5,32)	4,82	± 0
4	12,56 (11,48–13,70)	12,65	+ 0,4
5	5,39 (4,89–5,89)	5,21	– 3,3
6	16,98 (15,26–18,70)	16,09	– 5,2
7	5,71 (5,61–6,27)	5,21	– 8,9
8	6,66 (6,31–7,01)	6,66	± 0
9	12,93 (11,65–14,20)	13,26	+ 2,5
10	7,49 (6,88–8,10)	6,82	– 8,8

Fructose wird wie Glucose von der Hexokinase phosphoryliert. Durch die im Hämolysat vorhandene Phosphoglucose-isomerase der Erythrocyten wird das entstandene Fructose-6-phosphat in Glucose-6-phosphat umgewandelt, welches von der zugesetzten Glucose-6-phosphat-dehydrogenase unter NADPH-Bildung oxidiert wird.

Beim in vitro-Versuch mit einer Probe, die 1,12 mmol/l Fructose enthielt, wurde eine kontinuierliche Zunahme der Absorption bei 365 nm beobachtet; nach 45–60 Minuten war die Fructose vollständig umgewandelt. Bei einer Meßzeit von 5 Minuten wird so 0,17 mmol/l Glucose vorgetäuscht.

Pharmaka

Bei Einsatz der Tages-Maximaldosis, bezogen auf ein Volumen von 5 l, konnte bei in vitro-Versuchen für 34 Wirkstoffe keine Störung gefunden werden (Tab. 5).

Stabilität der Probe

Die Stabilität der Glucose im Hämolysat wurde an 15 verschiedenen Proben aus Venenblut untersucht. Die Glucose-Konzentration dieser Proben lag zwischen 3,67 und 13,38 mmol/l.

Die hämolysierten Proben wurden jeweils in 3 Aliquöte aufgeteilt und bei $+4^\circ\text{C}$, $+25^\circ\text{C}$ und $+37^\circ\text{C}$ über einen Zeitraum von 7 Tagen aufbewahrt.

Die Bestimmung der Glucosekonzentration erfolgte direkt nach dem Hämolysieren der Proben sowie jeweils an den folgenden 7 Tagen in 3fach-Werten nach der „ A_1/A_2 -Technik“.

Tab. 5. Konzentrationsangaben der eingesetzten Wirkstoffe.

Wirkstoffe	Eingesetzte Wirkstoffkonzentrationen in mg/l Serum bzw. ml/l Serum*
Acetylsalicylsäure	1400
Acidum ascorbicum	600
Adipidon-Meglumin (0,5 g/ml)	4*
Amidotrizoat-Meglumin (0,65 g/ml)	4*
Ampicillin	1200
Bisacodyl	4000
Buformin	60
Carbochromen	180
Chloramphenicol	400
Chlordiazepoxid	6
Coffein	300
Dextran (6 %)	100*
Dipyridamol	40
Ethaverin	400
Furosemid	100
Gelatine (30 g/l)	200*
Indometacin	40
Metaqualon	80
Methyldopum	400
Nitrofurantoin	60
Noramidopyrin-methansulfonat	800
Oxazepam	30
Oxiphenbutazon	120
Oxytetracyclin	600
Paracetamol	600
Phenazopyridin	120
Phenobarbital	60
Phenprocoumon	2
Phenytoin	160
Probenecid	200
Procain	40
Pyrithioxin	120
Rifampicin	150
Sulfamethoxazol	320

Die bei + 4 °C aufbewahrten Proben änderten ihr Aussehen im Versuchszeitraum nicht. Bei den bei + 25 °C und + 37 °C gelagerten Proben trat vom 2. Tag an eine Farbveränderung und ein zunehmender Bodensatz auf.

In diesen Fällen wurden die Proben zentrifugiert und der Überstand in den Test eingesetzt.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 4–6 auszugsweise dargestellt.

Es wurde für 5 Proben jeweils die prozentuale Abweichung vom Ausgangswert aufgetragen. Als Beurteilungskriterium wurde die 2fache Standardabweichung (2s-Bereich) aus der Messung der Streuung von Tag zu Tag (Kontrollseren) herangezogen.

Auch bei Anlegung dieses sehr strengen Kriteriums lagen die meisten Werte innerhalb des vorgegebenen Bereichs. Dies bedeutet, daß auch in makroskopisch zum Teil sehr stark veränderten Proben (7 Tage bei + 37 °C) keine zum Ausgangswert signifikante Änderung der Glucosekonzentration beobachtet werden konnte.

In einer weiteren Versuchsserie wurden die Proben ohne vorherige Zentrifugation gemessen. Dabei zeigte sich bei Proben, die länger als 2 Tage bei + 25 °C oder + 37 °C

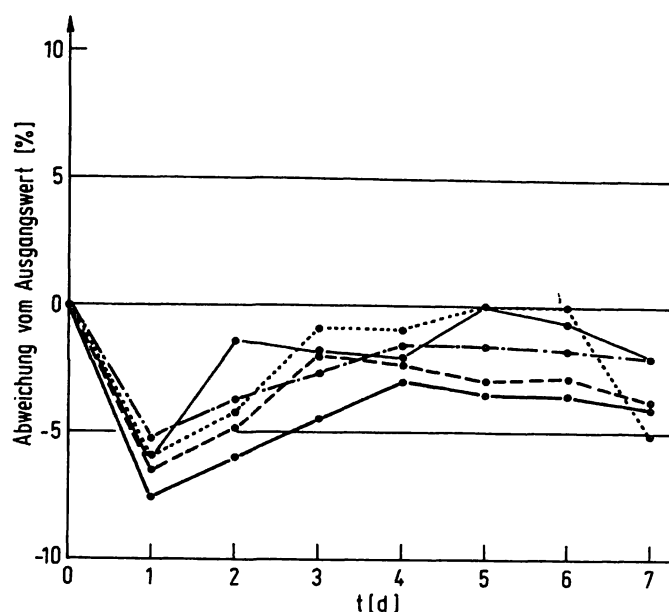


Abb. 4. Stabilität der Glucose im Hämolysat bei + 4 °C; Abweichungen in Prozent vom Ausgangswert bei 5 Blutproben.

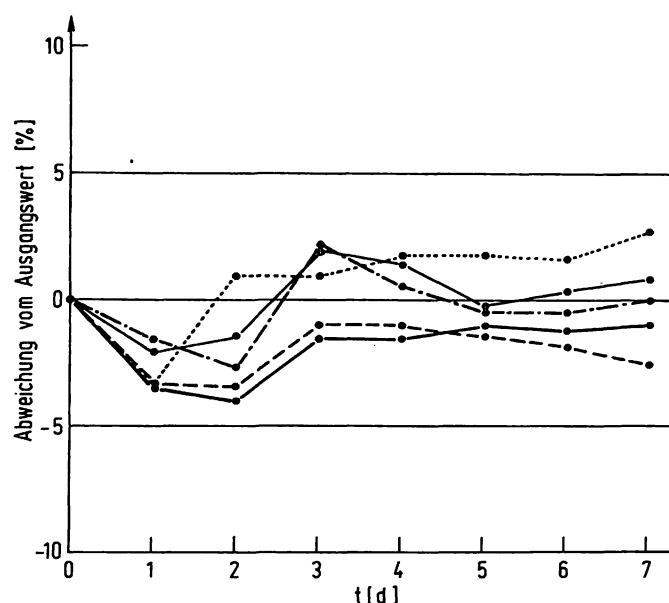


Abb. 5. Stabilität der Glucose im Hämolysat bei + 25 °C; Abweichungen in Prozent vom Ausgangswert bei 5 Blutproben.

aufbewahrt worden waren, eine deutlich höhere Anfangsabsorption des Bestimmungsansatzes, die zudem nicht konstant blieb. Nach 10 Minuten wurden Absorptionsabnahmen bis zu 0,030 beobachtet; auf dem Boden der Küvette setzte sich ein Sediment ab.

Die Messung des Hämolysats ohne Zentrifugation ist deshalb nur bei Proben zu empfehlen, die nicht älter als 2 Tage sind.

Methodenvergleich

Die Richtigkeit der Hämolysat-Methode wurde durch einen Methodenvergleich an 14 Venenblutproben und

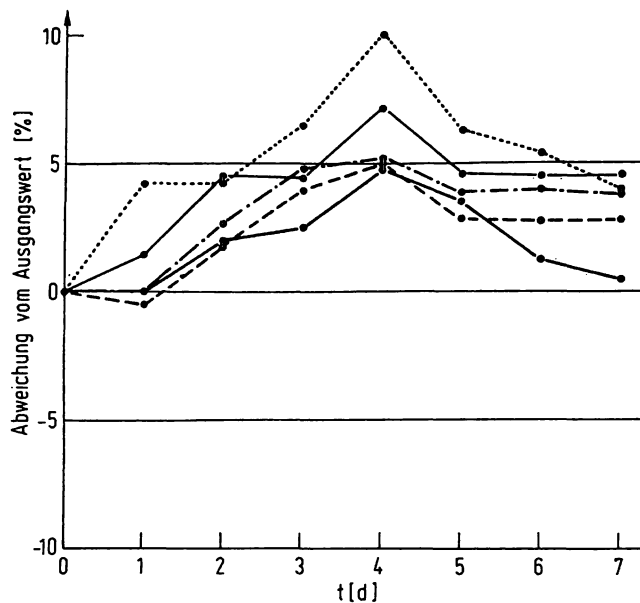


Abb. 6. Stabilität der Glucose im Hämolysat bei +37 °C; Abweichungen in Prozent vom Ausgangswert bei 5 Blutproben.

69 Kapillarblutproben überprüft. Als Referenzmethode diente die „Hexokinase-Methode mit Enteiweißung“.

14 Venenblutproben (Konzentrationsbereich: 3,60–16,62 mmol/l Glucose) wurden an 3 Arbeitstagen mit der Referenzmethode und der Hämolysat-Methode („A₁/A₂-Technik“) in 10fach-Bestimmung analysiert. Bedingt durch die Struktur der Versuchsanlage wurde eine 2fach-klassifizierte Varianzanalyse durchgeführt. Die Voraussetzung zur Durchführung einer solchen Varianzanalyse wurde mit Hilfe des *Shapiro-Wilk*-Tests überprüft. Aufgrund der Varianzanalyse der Ergebnisse kann zwischen beiden Methoden kein signifikanter Unterschied angenommen werden ($p > 0,5$) (Tab. 6).

Tab. 6. Methodenvergleich aus Venenblut
Hämolysat-Methode gegen Referenztechnik.

Probe	Glucose Methode 1 Hexokinase Hämolysat		Glucose Methode 2 Hexokinase mit Enteiweißung	
	Mittelwert (mmol/l)	Median (mmol/l)	Mittelwert (mmol/l)	Median (mmol/l)
1	6,54	6,55	6,94	6,97
2	11,05	11,08	10,82	10,80
3	11,10	11,10	10,90	10,85
4	10,36	10,35	10,32	10,21
5	7,82	7,80	7,66	7,69
6	11,93	11,99	11,92	11,88
7	3,62	3,66	3,58	3,58
8	5,18	5,16	5,31	5,30
9	7,35	7,30	7,08	7,13
10	4,20	4,16	4,71	4,69
11	4,00	3,97	4,19	4,16
12	15,95	15,98	16,27	16,29
13	6,88	6,88	6,70	6,69
14	4,77	4,72	4,77	4,77

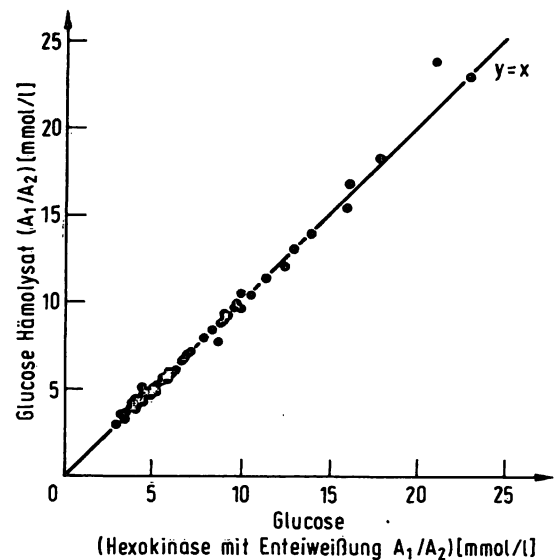


Abb. 7. Vergleich der Hämolysatmethode („A₁/A₂-Technik“) mit der Referenzmethode.

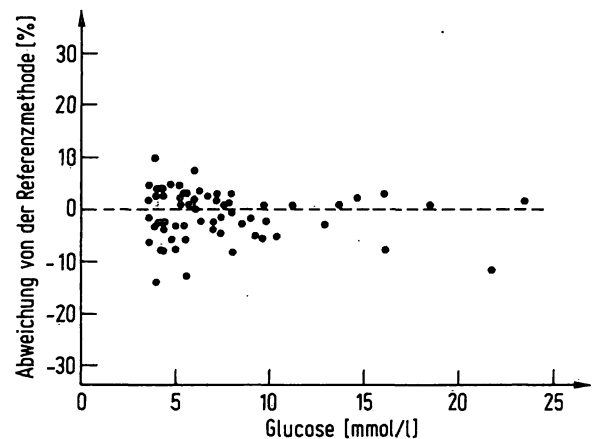


Abb. 8. Vergleich der Hämolysatmethode („A₁/A₂-Technik“) mit der Referenzmethode. Relative Differenzen in Abhängigkeit zur Glucosekonzentration.

69 Kapillarblutproben (Konzentrationsbereich: 3,55–24,42 mmol/l Glucose) wurden an 5 Arbeitstagen mit der Referenzmethode und der Hämolysatmethode („A₁/A₂“- und „P/PL-Technik“) als Einfachbestimmung analysiert. Die Bewertung der Methoden erfolgte durch Quantifizierung der Differenzen. In allen Beispielen war die mittlere Abweichung nicht größer als 0,055 mmol/l Glucose. (Abb. 7, Abb. 8).

Bei direktem Vergleich der beiden Hämolysat-Methoden „A₁/A₂-Technik“ und „P/PL-Technik“ wurden ebenfalls keine signifikanten Abweichungen gefunden (*Wilcoxon*-Test).

Danksagung

Wir danken Frau M. Hartwig und Frau Ch. Schneider für engagierte und zuverlässige Mitarbeit.

Literatur

1. Kruse-Jarres, J. D. (1979), Blutglucose, S. 105–110, Thieme-Verlag, Stuttgart.
2. Stork, H. & Schmidt, F. H. (1968), *Klin. Wochenschr.* **46**, 789–790.
3. Bergmeyer, H. U., Bernt, E., Schmidt, F. H. & Stork, H. (1974), in: *Methoden der enzymatischen Analyse* (Bergmeyer, H. U., Hrsg.), 3. Auflage, Bd. II, Verlag Chemie, Weinheim; S. 1241–1246.
4. Schmidt, F. H. (1977), in: 11. Jahrestagung der Deutschen Diabetes-Gesellschaft, Braunlage, 1976 (Weber, B., Hrsg.), Enke-Verlag, Stuttgart S. 18–26.
5. Sorger, M., Schlebusch, H., Hartwig, M. & Schneider, Ch. (1979), *Dt. Med. Wochenschr.*, **104**, 699–703.
6. Kritz, H., Koller, W., Regal, H., Taubald, C. & Irsigler, K. (1979), *Med. Klin.*, **74**, 267–271.
7. Karlson, P. (1974), *Kurzes Lehrbuch der Biochemie*, 9. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart, S. 229.
8. Karlson, P., Gerok, W. & Groß, W. (1978), *Pathobiochemie*, Thieme Verlag, Stuttgart, S. 312.
9. Aebi, H. & Wyss, S. (1979), *Med. Lab.* **32**, S. 47–58.
10. Schmidt, F. H., v. Dahl, K. & Heidrich, P. *Anal. Biochem.* (eingereicht).
11. Richterich, R., Greiner, R. & Küffer, H. (1973), *diese Z.* **11**, 65–75.
12. Förster, H., Heller, L. & Hellmund, U. (1974), *Dt. Med. Wochenschr.*, **35**, 1723–1729.
13. Schaub, P., Betzler, H., Boerner, D. & Stork, H. (1974), *Therapiewoche* **24**, 3594–3598.

Dr. H. Schlebusch
Universitäts-Frauenklinik
Sigmund-Freud-Straße 25
5300 Bonn 1, Venusberg

Dr. Marianne Sorger
Medizinische Universitäts-Poliklinik
Wilhelmstraße 35–37
5300 Bonn 1

Dr. E. Munz, A.-Ch. Kessler,
Dr. W. Zwez
Boehringer Mannheim GmbH
Biochemica Werk Tutzing
Bahnhofstraße 9–15
8132 Tutzing/Obb.

